

THESIS

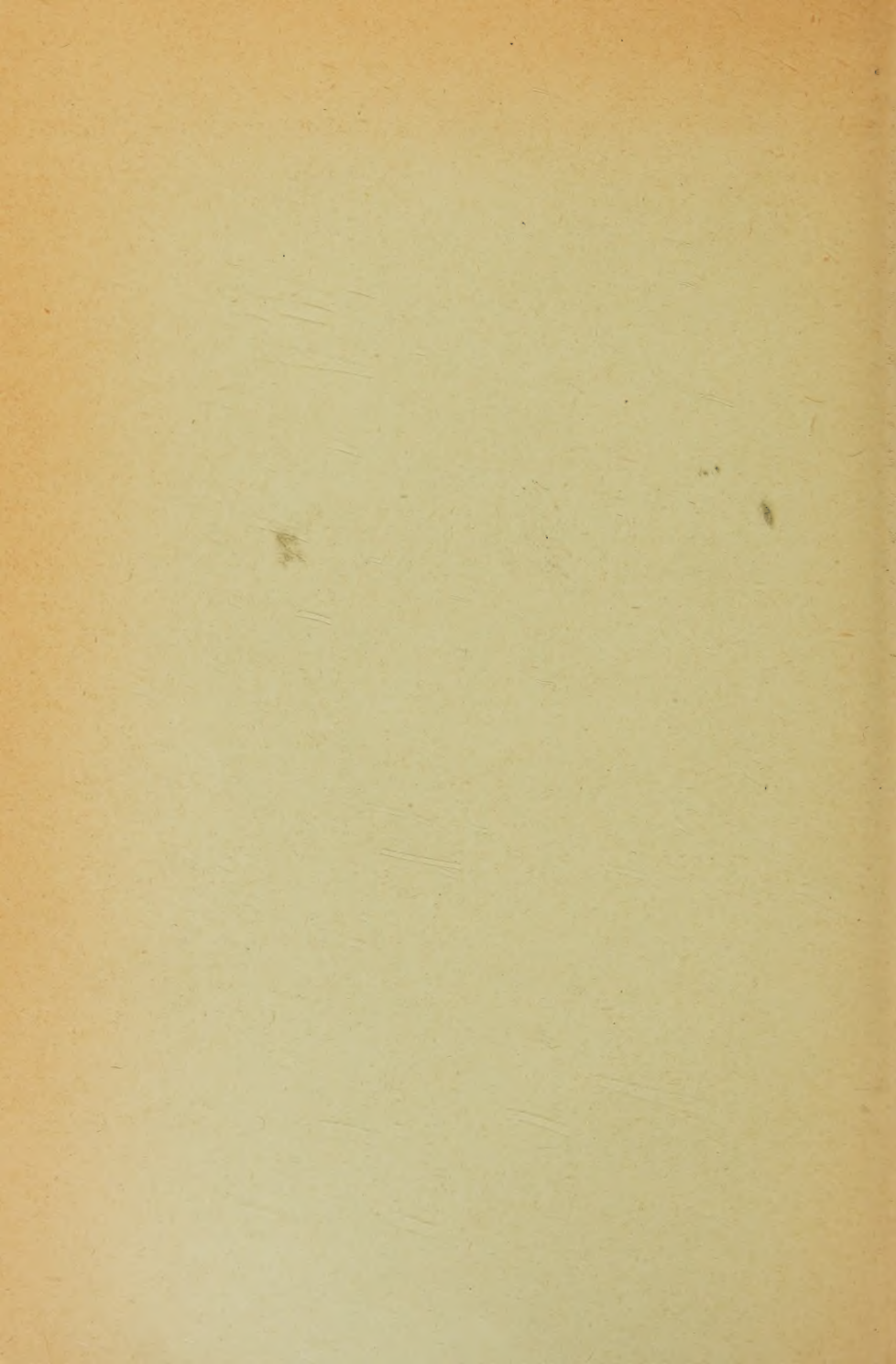
MUNICH

1965

**Methodische Untersuchungen über die
Anwendung des ALLEN-DOISY-Tests in der
Dermatologie unter Berücksichtigung des
Haut- und Haarcyclus**

LANE MEDICAL LIBRARY OF
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR
PALO ALTO, CALIFORNIA

Oswald Egeler



AUS DER DERMATOLOGISCHEN KLINIK
DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Prof. Dr. Dr. h. c. A. Marchionini

**Methodische Untersuchungen über die
Anwendung des ALLEN-DOISY-Tests in der
Dermatologie unter Berücksichtigung des
Haut- und Haarcyclus**

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Oswald Egeler
aus Tübingen

München 1965

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter:	Priv. -Doz. Dr. H. J. BANDMANN
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. Dr. A. MARCHIONINI
Dekan:	Prof. Dr. O. HUG

Tag der mündlichen Prüfung: 13. April 1965

INHALTSVERZEICHNIS

A. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG	5
B. GRUNDLAGEN DES ALLEN-DOISY-TESTS	8
C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN	9
1. Methodik	9
2. Versuche zur subkutanen Applikation	10
a) Bestimmung der Einheit	10
b) Kontrollversuche	11
c) Hauptversuche in Anwesenheit von Talg	12
d) Orientierende Versuche ohne Hormonzusatz	13
3. Versuche zur perkutanen Applikation	13
a) Vorbemerkungen und Bestimmung der Einheit	13
b) Hauptversuche	15
D. DISKUSSION	16
E. ZUSAMMENFASSUNG	17
F. LITERATURVERZEICHNIS	18



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40154016_0036

A. EINLEITUNG UND PROBLEMSTELLUNG

Der ALLEN-DOISY-Test beruht auf der Tatsache, dass unter der Einwirkung von Oestrogenen am Vaginalepithel von Nagern (Ratte, Maus) eine beschleunigte Proliferation und Keratinisation auftritt.

Auch die äussere Haut zeigt gewisse Veränderungen unter dem Einfluss dieser Hormone. WHEELER u.M. (1953) konnten nach lokalen Oestrogengaben bei kastrierten, männlichen Meerschweinchen eine Grössenzunahme, eine stärkere Verhornung und Pigmentation der Brustwarzen und der Areolae feststellen. Über eine Zunahme und einen Anstieg der Melanocytenzahl in der Haut und des extrazellulären Melanins nach Oestrogengaben bei ovariectomierten Tieren berichten SNELL u.M. (1960), und ein Hinweis auf eine beschleunigte Keratinisation findet sich bei ZUCKERMANN (1940). Auch bei der Rezidiventstehung des chronischen, rezidivierenden Ekzems bei der Frau werden Oestrogeneinflüsse diskutiert (NEUMANN u.M. (1964)).

Über den Einfluss von Oestrogenen auf die Talgdrüsenfunktion liegen zahlreiche Arbeiten vor. So fand zum Beispiel EBLING (1951) nach Implantation von Oestradiolbenzoat bei weiblichen Albinoratten eine kurzdauernde Grössenzunahme, in den folgenden Tagen jedoch einen starken Abfall. BULLOUGH u.M. (1960) sahen ebenfalls nach relativ hohen Oestrogengaben eine signifikante Hemmung. Besonders stark in diesem Sinne scheint das 16-Epioestriol zu wirken (BULLOUGH (1960)), HEROLD (1962), KOSTANECKI u.M. (1963)).

In Abhängigkeit vom Menstrualcyclus fanden HODGSON-JONES u.M. (1952) beim Menschen einen Anstieg der Talgdrüsentätigkeit bis zum 12. bis 15. Tag, ebenso wurde ein Anstieg bei der Albinoratte während des Prooestrus gefunden (EBLING (1954)).

Inwieweit die Talgdrüsenwirkung der Oestrogene jedoch mittelbar oder unmittelbar erfolgt, ist noch offen; nach neueren Untersuchungen scheint eine mittelbare Wirkung wahrscheinlicher, da die hemmende Wirkung von Oestrogenen bei gleichzeitigem, ausreichendem Angebot von Androgenen unterbleibt (STRAUSS u.M. (1962)).

Dass Oestrogene aber auch an Ort und Stelle in der Haut nachzuweisen sind, zeigen Untersuchungen von SCHREUS und OBERSTE-LEHN (1951). Sie fanden im Stratum corneum und in den Schuppen von Ekzemkranken bei Frauen im Mittel 20 γ , bei Männern 10 γ phenolische Steroide in 10 g Ausgangs-

material. Ebenso konnte NAKAO u.M. (1961) im Schweiss auf papierchromatischem Wege oestrogenartige Substanzen nachweisen. Ein biologischer Hinweis auf das Vorkommen solcher Stoffe in bzw. auf der Haut findet sich bei ROESSLER (1963), der in Untersuchungen zur Stechmückenanlockung speziell für Oestrogene in noch sehr geringen Konzentrationen (für Oestron $1,25 \times 10^{-2} \gamma / \text{ccm}$, für Oestriol $1,4 \times 10^{-9} \gamma / \text{ccm}$) eine stark attraktive Wirkung feststellen konnte.

Über den Nachweis von Oestrogenen im Hauttalg selber liegen jedoch noch keine Untersuchungen vor.

In diesem Zusammenhang schien es uns deshalb von Bedeutung, zu untersuchen, ob die klassische Methode zum Nachweis von Follikelhormon, der ALLEN-DOISY-Test, auch in Anwesenheit von menschlichem Hauttalg möglich ist.

In der Literatur werden für die perkutane Applikation der Substanzen von den verschiedenen Autoren stark differierende Schwellenwerte angegeben (BOMSKOV (1939) das 3-fache der subkutanen Dosis, SJÖBLOM (1956) das 3- bis 5-fache), was wohl nicht nur auf unterschiedliche Lösungsmittel zurückzuführen ist. Da im Tierexperiment eine Reihe von cyclischen Vorgängen an der Haut als sogenannter "Haut-" bzw. "Haarcyclus" fassbar sind, liegt es nahe, hierin einen Grund für die mangelnde Übereinstimmung der Angaben bei der perkutanen Applikation der zu prüfenden Substanzen zu suchen.

ROTHMAN (1954) definiert den Haarcyclus als "Periode, die mit Bildung und Wachstum eines neuen Haares beginnt, auf die ein Ruhestadium folgt, und die mit dem Wachstum eines weiteren, neuen Haars desselben Follikels zu Ende geht". Man teilt ihn ein in das Anagenstadium, die eigentliche Wachstumsphase, das Katagen, die Übergangsphase und in das Telogen, die Ruhephase. Im Gegensatz zu Mensch und Meerschweinchen läuft der Haarcyclus bei Ratten und Mäusen synchronisiert ab, d.h. die Mehrzahl der Haare befindet sich jeweils in derselben Phase, und das Wachstum verläuft wellenartig vom Kopf über den Rücken ab. Bei der Maus dauert der ganze Cyclus ungefähr einen Monat (DRY (1926)).

Eine ganze Reihe von Autoren berichten nun über Hautveränderungen während des Haarcyclus. CHASE u. MONTAGNA (1953) haben festgestellt, dass im vollen Anagen das Corium um die Hälfte gewachsen und die subkutane Fettschicht zwei- bis dreimal dicker ist als "normal", d.h. im Telogen. Ebenso nimmt das Volumen der Talgdrüsen um ein Vielfaches zu (ANDREASEN (1953), CHASE (1954)). BRAUN-FALCO und FRENZ zeigten, dass der Dickenzunahme der Fettschicht eine quantitative Vermehrung des subkutanen Fettes zugrunde liegt, wogegen der Wassergehalt der Haut während des Anagens immer mehr abfällt. Dieselbe Arbeitsgruppe berichtet ausserdem über einen Anstieg der Mu-

copolysaccharide im Hautbindegewebe während des Anagens und über eine gesteigerte mitotische Aktivität in der Haarmatrix. MORETTI u.M. (1963) untersuchten die Mastzellen, den Serotonin- und Histamingehalt der Haut von Ratten während des Haarcyclus. Dabei fanden sie einen langsamen Abfall des Serotonins in der Anagenphase, während das Histamin in dieser Phase deutlich anstieg, um in der Telogenphase wieder abzufallen. Die Mastzellen zeigten wiederum nach der ersten Woche des neuen Cyclus einen steilen Abfall mit dem tiefsten Punkt am 19. Tag; anschliessend stieg ihre Zahl wieder an.

Angesichts dieser erheblichen Veränderungen während der Periode aktiven Haarwachstums erscheint es nun auch nicht verwunderlich, wenn die Durchblutungsrate der Haut und die Vaskularisierung während dieser Zeit eine bessere ist (DURWARD u. RUDALL (1949)).

Für den Ausfall des ALLEN-DOISY-Tests ist nun entscheidend, welcher Anteil der auf die Haut gebrachten Substanzmenge jeweils resorbiert wird.

Die perkutane Resorption von Stoffen erfolgt auf zwei Wegen, einmal durch die Epidermis direkt, und zum andern über den Haartalgdrüsenapparat. Die Resorptionsrate via Epidermis ist begrenzt durch die Integrität einer Barriere, die sich wie eine negativ geladene Membran verhält und im Stratum corneum unmittelbar über dem Stratum granulosum liegt (SZAKALL (1955)). Ist diese Barriere irgendwo unterbrochen, so ist die Resorption sehr stark erhöht (ROTHMAN (1954)).

Die Hauptroute der perkutanen Resorption führt also normalerweise über den Haartalgdrüsenapparat, wie MACKEE und SULZBERGER (1945) mit lokaler Applikation von Farbstoffen und AXELROD und HAMILTON (1947) durch die Anwendung radioaktiv markierter Substanzen zeigen konnten. Zwischen Haarschaft und Follikelwand existiert ein mit Luft und Talg gefüllter Raum, der mit dem Ausführungsgang direkt in Verbindung steht, so dass die zu resorbierende Substanz auf zwei Wegen in das Corium bzw. in die Subcutis gelangt; durch die Talgdrüsen und durch die Wand des Follikels, zumal da in dessen unteren zwei Dritteln die Barriere fehlt (MACKEE u. SULZBERGER (1945)).

Wie oben angeführt ist aber das Volumen der Talgdrüsen im Anagenstadium des Haarcyclus um ein Vielfaches grösser als im Telogen, ebenso sitzt der Haarfollikel im Anagen bedeutend tiefer in der Haut (ROTHMAN (1954)), wodurch die barrierefreie Wandstrecke des Follikels möglicherweise ebenfalls vergrössert ist. Befindet sich eine Substanz jedoch einmal jenseits der Barriere, kommt auch der Durchblutungsrate eine Bedeutung zu, indem durch verstärkte Durchblutung im Anagen der Abtransport der resorbierten Substanz beschleunigt und dadurch ein grösseres Konzentrationsgefälle zwischen aussen und innen erzeugt wird.

Dass die erwähnten, morphologischen Veränderungen der Haut während

des Haarcyclus auch funktionelle Unterschiede in den einzelnen Phasen zur Folge haben, darauf weisen Untersuchungen mit Mäusen hin, die mit Trichophyton mentagrophytes infiziert wurden; die Infektion gelang praktisch niemals in der Telogenphase (KLIGMAN (1956), KOSTANECKI, BOSSE u. KREML-LAMPRECHT (1963)).

Inwieweit diese Unterschiede auch die Resorption von Stoffen durch die Haut betreffen, sollte speziell für Oestrogene (Oestron in alkoholischer Lösung) mit Hilfe des ALLEN-DOISY-Tests untersucht werden, indem der Ausfall des Tests bei perkutaner Zuführung bekannter Hormondosen im Schwellenbereich während der Telogen- und der Anagenphase (12. Tag, Anagen VI) verglichen wird.

Durch dieses Vorgehen werden die Ergebnisse dieser Untersuchungen in mehrfacher Hinsicht bedeutungsvoll. Denn eine etwaige gesteigerte Resorption von Oestrogenen in der Anagenphase würde

1. methodisch für den ALLEN-DOISY-Test von Bedeutung sein, indem im Anagen geringere Hormonmengen nachgewiesen werden könnten;
2. könnte vom physiologisch-dermatologischen Standpunkt aus eine gesteigerte Oestrogenresorption als Modellfall für weitere Stoffe gelten, deren perkutane Resorption auch therapeutisch von Wichtigkeit ist;
3. wäre damit ein weiterer Hinweis dafür erbracht, dass den bekannten morphologischen Veränderungen der Haut während des Haarcyclus auch funktionelle parallel gehen.

B. GRUNDLAGEN DES ALLEN-DOISY-TESTS

Das Oberflächenepithel der Vagina bei kastrierten Nagern, besonders bei Ratte und Maus, ist dünn und besteht nur aus wenigen Zellschichten. Dementsprechend durchdringen leicht Leukocyten das Epithel und sind an der Oberfläche zu finden. Unter dem Einfluss von Oestrogenen wird das Epithel jedoch bedeutend dicker, die Zellen vermehren sich stark, die oberflächennahen verlieren ihre Kerne und bilden grosse, polygonale Schollen. Findet man im Abstrich nur diese Schollen, so ist das Tier brünstig, es befindet sich im Oestrus. Je nach dem, welche Zellelemente im Abstrich zu finden sind, unterscheidet man den Dioestrus, bei dem die Leukocyten sehr zahlreich sind und relativ wenig kernhaltige Epithelzellen auffallen; den Prooestrus, bei dem die Leukocyten im Verschwinden begriffen sind, die Epithelzellen vorherrschen und sogar schon einige

Schollen eingestreut sind. Der Oestrus ist, wie schon erwähnt, durch das reine Schollenstadium charakterisiert, während im Metoestrus die Schollen wieder abnehmen und einige Leukocyten die Oberfläche schon wieder erreicht haben. Als Mäuse- bzw. Ratteneinheit bezeichnet man die Follikelhormonmenge, die bei einem kastrierten Tier eben noch den Oestrus auszulösen vermag.

C. EIGENE UNTERSUCHUNGEN

1. METHODIK

Mäusen wurde der Vorzug gegeben, da die Mäuseeinheit niedriger und der arbeitstechnische Aufwand bei Mäusen geringer ist. Mit einem Gewicht von 20 bis 25 g wurden die Tiere kastriert. Vier Wochen danach wurden über mehrere Tage Probeabstriche angefertigt, um Tiere mit eventuell nur teilweise entfernten Ovarien von vornherein auszuschalten.

Zum Abstreichen verwandten wir Platinösen, da nach unserer Erfahrung damit weniger Gefahr besteht, die äusseren Teile der Vagina zu berühren und damit das Bild verfälschende verhornte Zellen zu verschleppen als mit einem Glasstab. Der Abstrich wurde gut luftgetrocknet, in der Flamme kurz fixiert und circa zwei Minuten mit Methylenblau gefärbt. Diese Färbung erwies sich für unsere Zwecke als völlig ausreichend, da nur das Vorhandensein von Schollen als Kriterium des Oestrus betrachtet wurde. Zeigten 50 % der Tiere eines Versuches einen Oestrus, galt das Ergebnis als positiv (BOMSKOV (1939)). Da normalerweise der Oestrus ungefähr 72 Stunden nach der ersten Hormongabe auftritt, wurden bei jeder Versuchsreihe 4 bis 6 Abstriche angefertigt, der erste nach 48, der letzte nach 84 bis 96 Stunden.

Zur Talggewinnung verwandten wir 44 cm hohe Standzylinder mit einem Durchmesser von 9 cm, zur Hälfte etwa aufgefüllt mit 50 %-igem Aethanol p.a., in denen die Probanden (gesunde männliche bzw. weibliche Personen im geschlechtsreifen Alter) ihren Arm jeweils 15 Minuten dem Lösungsmittel aussetzten, wobei sie angehalten wurden, den Arm immer leicht in Bewegung zu halten, um eine optimale Einwirkung des Lösungsmittels zu gewährleisten. Der Alkohol wurde dann im Vakuum bei 40° C mit Hilfe eines Rotationsverdampfers überdestilliert, der Rückstand mit 2 bis 3 ml 50 %-igem Aethanol wieder aufgenommen und entsprechend der Anzahl der Versuchstiere mit destilliertem Wasser bis zu einer 7 %-igen alkoholischen Lösung verdünnt.

2. VERSUCHE ZUR SUBKUTANEN APPLIKATION

a) Vorbemerkungen und Bestimmung der Einheit

Die Haut der Maus ist auf ihrer Unterlage sehr gut verschieblich und leicht abhebbar, so dass man selbst grössere Mengen injizieren kann, da sich die Flüssigkeit, besonders wässrige Lösungen, rasch verteilt und deshalb auch relativ schnell resorbiert wird. Um das Auslaufen der Flüssigkeit aus dem Stichkanal zu verhindern, wurde die Nadel möglichst weit unter die Nackenhaut vorgeschoben und die Einstichstelle nach der Injektion noch für etwa eine halbe Minute abgeklemt.

Die Einheit, die zur Auslösung der Brunst notwendig ist, kann deutlich niedriger gehalten werden, wenn man die Hormonmenge in mehreren Dosen verabreicht, als wenn sie auf einmal gegeben wird (BOMSKOV (1939)). Diese Mehrdosentechnik wurde von uns praktiziert, und zwar gaben wir vier Dosen innerhalb von 36 Stunden, gelöst in jeweils 0,5 ccm 7 %-igem Alkohol; bei dieser Konzentration konnten wir keine Nekrosen beobachten. Als Testsubstanz verwandten wir Oestron- und Oestriolpräparate, die uns freundlicherweise von der Firma SCHERING A.G., Berlin, zur Verfügung gestellt wurden.

In je fünf Versuchen mit jeweils acht Mäusen prüften wir die Empfindlichkeit unserer Mäusepopulation auf Oestron bzw. Oestriol mit fallenden Konzentrationen. Für Oestron ergab sich ein Wert von $0,14 \gamma$ pro Maus, bei dem noch 50 % der Tiere positiv reagierten, für Oestriol eine Dosis von 19γ (siehe Tab. I); beide Werte entsprechen in etwa den in der Literatur angegebenen Dosen (BOMSKOV (1939)) und wurden durch die folgenden Versuche bestätigt.

TABELLE I

Subkutane Schwellenwerte

Oestron			
	Zahl d. T.	Dosis in γ pro Tier	Pos. Reakt.
V1	8	0,18	8
V2	8	0,14	5
V3	8	0,13	2
V4	8	0,12	1
V5	8	0,1	1

Oestriol			
	Zahl d. T.	Dosis in γ pro Tier	Pos. Reakt.
V1	8	20	7
V2	8	19	4
V2a	8	19	5
V3	8	18	3
V4	8	17	1

b) Kontrollversuche

Obwohl das Eindampfen des Lösungsmittels im Rotationsverdampfer bei 40° C als äusserst schonend bezeichnet werden kann, und durch dieses Verfahren wohl kaum eine Alteration von etwa vorhandenen Oestrogenen zu erwarten war, führten wir Kontrollversuche durch. Vor dem Eindampfen wurden die Hormone zugesetzt; 0,14 γ Oestron und 19 γ Oestriol pro Maus in Dosen für je 8 Tiere, einmal zusammen mit Talg, das andere Mal ohne diesen.

Es zeigte sich, dass die Wirksamkeit der Oestrogene erhalten blieb (siehe Tab. II). Lediglich im Versuch Oestron plus Talg reagierten nur 3 von 8 Mäusen, was aber eventuell damit zu erklären ist, dass der Rückstand von Hormon mit Talg, der nach dem Verdampfen übrig blieb, sich doch etwas schwieriger aus dem Rundkolben wieder aufnehmen liess als die reine Substanz.

TABELLE II

Kontrollversuche

Oestron in γ			
	Anzahl der Tiere	Dosis pro T.	Pos. Reakt.
Mit Talg v. 4 Armen	8	0,14 γ	3
Ohne Talg	8	0,14 γ	5
Oestriol in γ			
	Anzahl der Tiere	Dosis pro T.	Pos. Reakt.
Mit Talg v. 4 Armen	8	19 γ	5
Ohne Talg	8	19 γ	4

c) Hauptversuche in Anwesenheit von Talg

Um einen hemmenden oder fördernden Einfluss von menschlichem Hauttalg auf den Ausfall des ALLEN-DOISY-Tests festzustellen, wurden folgende Versuchsreihen angestellt: Gruppen von je 16 Tieren erhielten 0,15 γ , 0,14 γ , 0,12 γ Oestron pro Tier plus Männer- bzw. Frauentalg von 8 Armen pro Gruppe, der nach dem oben beschriebenen Verfahren gewonnen und aufbereitet worden war. Wirkte die Anwesenheit von Talg hemmend auf den Oestrogeneffekt, müssten alle Versuche negativ ausfallen bzw. wenn die Hemmung nur relativ gering wäre, würde die Gruppe Va eventuell noch positiv reagieren. Weder das eine noch das andere liess sich nachweisen (siehe Tab. III); von den Gruppen mit 0,15 γ zeigten 12 bzw. 14 Tiere eine positive Reaktion; bei den Gruppen mit 0,14 γ pro Tier waren es 8 bzw. 9; die Gruppen mit niedrigerer Konzentration blieben unter der 50 %-Grenze.

TABELLE III

Oestron + Männertalg von 8 Unterarmen			
	Zahl der Tiere	Dosis pro T.	Pos. Reakt.
Va	16	0,15 γ	12
Vb	16	0,14 γ	8
Vc	16	0,12 γ	2

Oestron + Frauentalg von 8 Unterarmen			
	Zahl der Tiere	Dosis pro T.	Pos. Reakt.
Va'	16	0,15 γ	14
Vb'	16	0,14 γ	9
Vc'	16	0,12 γ	3

d) Orientierende Versuche ohne Hormonzusatz

Aus den Versuchen unter c) entnahmen wir, dass das halbe Eluat eines Unterarms pro Maus offenbar nicht ausreichte, um einen oestrogenen Effekt zu erzeugen, so dass wir nun pro Tier die Talgmenge verdoppelten, jedoch ohne Zugabe von Hormon: je 4 Tiere erhielten das Eluat von 4 Männer- bzw. von 4 Frauenarmen. Alle Tiere reagierten negativ.

Ebenso stellten wir einige orientierende Versuche mit Schweiss an, der durch Abwischen des Körpers mit einem Schwamm im Saunabad gewonnen worden war. 50 ml Schweiss von Frauen, die sich zwischen dem 5. bis 13. Cyclustag befanden, und 60 ml von Frauen zwischen dem 17. und 24. Tag wurden etwa auf das 10-fache eingedickt und auf je 3 Mäuse verteilt, bei denen jedoch ebenfalls keine Brunst beobachtet werden konnte.

3. VERSUCHE ZUR PERKUTANEN APPLIKATION

a) Vorbemerkungen und Bestimmung der Einheit

Die Gewähr, die bei der subkutanen Injektion einigermassen gegeben ist, nämlich dass die injizierte Menge auch tatsächlich zur Wirkung kommt, besteht bei der perkutanen Applikation nicht in gleichem Masse. Der störende Einfluss der Haare wird dadurch verringert, dass die Tiere an den betreffenden Stellen

geschoren werden, wodurch eine Steigerung der relativen Wirksamkeit einer Substanz um das drei- bis vierfache erreicht werden kann (SJÖBLOM (1956)). Die grösste Fehlerquelle besteht jedoch darin, dass die Tiere möglicherweise einen Teil der aufgetragenen Substanz ablecken. Um dies zu verhindern, haben manche Autoren die Hautstellen mit Gazestreifen abgedeckt und regelrechte Bandagen angelegt, die dann aber teilweise von den Tieren wieder abgerissen werden.

Wir gingen in der Weise vor, dass wir etwa zwei Drittel der Rückenhaut der Tiere mit einer elektrischen Haarschneidemaschine schoren. Analog der Mehrdosentechnik bei der Injektion wurde die Hormonmenge wieder aufgeteilt und zwar in Dosen, gelöst in jeweils 0,3 ccm 50 %-igem Alkohol, da SJÖBLOM nämlich feststellte, dass bei Verwendung flüchtiger Lösungsmittel die relative Wirksamkeit noch mehr gesteigert werden kann. 0,3 ccm entsprachen relativ gut der momentanen Kapazität der zu benetzenden Hautstelle; aus einer Rekordspritze wurde diese Menge in einzelnen Tropfen auf die Haut gebracht und dann mit Hilfe eines Fingerlings bis zur Verdunstung einmassiert. Die Neigung der Tiere, sich anschliessend sofort abzulecken und zu putzen, wurde dadurch etwas eingedämmt, dass sie vorläufig in einen ihnen ungewohnten Käfig gesetzt und von Zeit zu Zeit etwas aufgeschreckt wurden. Die Abstriche wurden wie beim subkutanen Verfahren angefertigt und ausgewertet.

Mit den perkutanen Versuchen soll also untersucht werden, ob sich ein Unterschied feststellen lässt hinsichtlich der Resorptionsrate zwischen Tieren, die sich im Telogen, und solchen, die sich im Anagen befinden. Dafür sind folgende Voraussetzungen notwendig:

1. Die perkutane Einheit unserer Mäusepopulation im Telogen muss bekannt sein, denn in diesem Bereich müssen sich die Testdosen bewegen, soll sich überhaupt ein Unterschied zeigen.

Nach SJÖBLOM (1956) muss man für die perkutane Dosis ungefähr das dreifache der subkutanen rechnen. Für die subkutane Applikation hatten wir für Oestron einen Schwellenwert von $0,14 \gamma$ gefunden, so dass wir bei $3 \times 0,14 \gamma$ pro Maus begannen und an insgesamt 40 Tieren in fallenden Konzentrationen für die perkutane auf einen Wert von $3 \times 0,1 \gamma$ kamen, bei dem 50 % der Tiere noch positiv reagierten (siehe Tab. IV).

2. Die transepidermale Resorption muss möglichst gering, d.h. die Barriere muss unverletzt bleiben. Denn etwaige Einflüsse des Haarcyclus auf die Resorption betreffen nach dem einleitend Gesagten ja hauptsächlich den Haartalgdrüsenapparat. Deshalb wurden die Tiere 24 Std. vor der Applikation des Hormons geschoren, damit die durch das Scheren eventuell geschädigte Barriere sich wieder regenerieren konnte. LÖFFLER und THOMAS (1951) fanden bei Ratten eine Regenerationszeit derselben von acht Stunden.

TABELLE IV
Perkutane Schwelle mit Oestron

	Zahl der Tiere	Dosis in γ pro Tier	Pos. Reakt.
V1	8	3 x 0,14	7
V2	8	3 x 0,13	7
V3	8	3 x 0,10	5
V3a	8	3 x 0,10	4
V4	8	3 x 0,08	2

Die Haare von zwei Dritteln der Rückenhaut von Tieren, die sich im Telogen befanden, wurden vollständig ausgezupft, was sich in diesem Stadium relativ leicht durchführen lässt, um damit die Follikel zur Bildung eines neuen Haares zu veranlassen ("induzierter Haarcyclus"). Am 12. Tag nach der Epilation, an dem das Haar im Anagen VI steht, wurde den Tieren die Testsubstanz appliziert. Die zu diesem Zeitpunkt eben durchgebrochenen Haaren wurden analog der Gruppe im Telogen ebenfalls geschoren, um möglichst gleiche äussere Versuchsbedingungen zu schaffen.

b) Hauptversuche

Um gleich etwas unterhalb der normalen perkutanen Schwellendosis im Telogen zu bleiben, gaben wir pro Tier 3 x 0,08 γ also 0,24 γ Oestron.

Von 40 Tieren im Anagen reagierten 21 positiv, während von 38 Mäusen, die sich im Telogen befanden, nur 10 einen Oestrus zeigten (siehe Tab. V). Die Prüfung dieser Ergebnisse mit dem χ^2 -Test ergab einen signifikanten Unterschied (5,64 = 2-1 %).

TABELLE V

	Zahl der Tiere	Dosis pro T.	Pos. Reakt.
Versuch im Anagen	40	3 x 0,08 γ	21
Versuch im Telogen	38	3 x 0,08 γ	10

D. DISKUSSION

Es hat sich gezeigt, dass die Anwesenheit von menschlichem Hauttalg bei der kastrierten, weiblichen Albinomaus die Wirkung von Oestrogenen nicht blockiert. Ferner liess sich orientierend feststellen, dass, sofern sich Oestrogene im menschlichen Hauttalg finden, im Eluat eines Unterarms weniger enthalten sein müssen als einer Mäuseeinheit entspricht, zumal da die von uns angewandte Gewinnung und Aufbereitung des Hauttalges zugesetzte Oestrogene unbeeinflusst lässt. Ebenso konnte in zwei orientierenden Versuchen mit eingedicktem Frauenschweiss bei keinem der Tiere eine Brunst ausgelöst werden.

In den Versuchen zur perkutanen Applikation konnte nun gezeigt werden, dass entsprechend den morphologischen Veränderungen der Haut während der Phase aktiven Haarwachstums (Dickenzunahme des Coriums, Änderungen im Gehalt an Mucopolysacchariden, Histamin, Serotonin; Vergrösserung der Talgdrüsen), sich auch funktionelle Unterschiede nachweisen lassen. Tiere, denen am 12. Tag eines induzierten Haarcyclus das Hormon perkutan zugeführt wurde, zeigten gegenüber einer Kontrollgruppe, die sich im Telogen befand, signifikant vermehrt einen positiven Testausfall. Diesem Effekt liegt eine erhöhte, perkutane Resorptionsrate zugrunde.

Für den ALLEN-DOISY-Test bedeutet dies, dass bei der perkutanen Applikationsform eine erhöhte Empfindlichkeit erreicht werden kann, wenn bei den Tieren ein neuer Haarcyclus induziert und die Testsubstanz zur Zeit des vollen Anagens zugeführt wird.

Für den Dermatologen liegt der Schluss nahe, dass die erhöhte Resorptionsfähigkeit im Anagen nicht nur Oestrogene, sondern auch andere Stoffe betrifft, deren Resorption eventuell therapeutisch von Bedeutung ist, zumal da auch bei Arten mit primär unsynchronisiertem Haarcyclus (Mensch und Meerschweinchen) temporäre Synchronisationen vorkommen (Mensch: BOSSE u. BRZEZINSKA im Druck; KOSTANECKI u. M. im Druck; Meerschweinchen: BOSSE u. KOSTANECKI (1964)).

E. ZUSAMMENFASSUNG

1. Der Ausfall des ALLEN-DOISY -Tests bleibt durch die Anwesenheit von menschlichem Hauttalg unbeeinflusst.
2. In orientierenden Versuchen mit reinem Hauteluat sowie mit Schweisskonzentraten liess sich keine Brunst erzeugen.
3. Der positive Ausfall des Tests bei perkutaner Applikation findet sich signifikant vermehrt bei Tieren, die sich im Anagen befinden, d.h. die Resorption von Follikelhormon ist in dieser Phase erhöht, was
 - a) eine Möglichkeit zur Steigerung der Empfindlichkeit des ALLEN-DOISY-Tests darstellt, wenn der Haarcyclus der Tiere berücksichtigt wird;
 - b) als funktionelles Korrelat zu den bekannten morphologischen Veränderungen während des Haarcyclus aufzufassen ist;
 - c) auch therapeutisch von Wichtigkeit sein könnte, wenn man die gesteigerte Oestrogenresorption als Modellfall für weitere Stoffe betrachtet.

F. LITERATURVERZEICHNIS

1. ANDREASEN, E.:
"Cyclic changes in the skin of the mouse".
Acta path.microbiol.scand.32, 157 (1953).
2. AXELROD, D.J.; HAMILTON, J.G.:
"Radioautographic studies of the distribution of lewisite and mustard gas in skin and eye tissues".
Am.J.Path.23, 389 (1947).
3. BOMSKOV, Chr.:
"Methodik der Hormonforschung".
Bd.2, Leipzig (1939).
4. BOSSE, K.; KOSTANECKI, W.:
"Die temporäre, physiologische Synchronisation des Haarcyclus beim Meerschweinchen".
Der Hautarzt, 15.Jahrgang, 6, 305 (1964).
5. BOSSE, K.; RUBISZ-BRZEZINSKA, J.:
"Haarwurzelstatusbestimmung bei menschlichen Säuglingen".
Arch.klin.exp.Derm. im Druck.
6. BRAUN-FALCO, O.:
"Über die mitotische Aktivität in der Haarmatrix bei der Albinomaus während eines künstlich induzierten Haarcyclus".
Arch.klin.exp.Derm.215, 63 (1962).
7. BRAUN-FALCO, O.; FRENZ, O.:
"Über Veränderungen des Wassergehalts der Haut während des Haarwachstumscyclus bei der Ratte".
Arch.klin.exp.Derm.212, 64 (1960).
8. BRAUN-FALCO, O.; FRENZ, O.:
"Über Veränderungen im Fettgehalt der Rattenhaut während des Haarcyclus".
Arch.klin.exp.Derm.212, 173 (1961).
9. BRAUN-FALCO, O.; THEISEN, H.:
"Über Veränderungen im Hautbindegewebe während des Haarwachstumscyclus bei der Maus".
Arch.klin.exp.Derm.209, 426 (1959).

10. BULLOUGH, W.S.; LAURENCE, E.B.:
"Experimental sebaceous gland suppression in the adult male mouse".
J.Invest.Derm.35, 37 (1960).
11. CHASE, H.B.: "Growth of the hair".
Phys.Rev.34, 113 (1954).
12. DOCUMENTA GEIGY
"Wissenschaftliche Tabellen"
6.Aufl., Basel (1960).
13. DRY, F.W.: "The coat of the mouse (*mus musculus*)".
J.Genet.16, 287 (1926).
14. DURWARD, A.; RUDALL, K.M.:
"Studies of hair growth in the rat".
J.Anat.83, 325 (1949).
15. EBLING, F.J.: "Changes in the sebaceous glands following the implantation of oestradiol benzoate in the female albino rat".
J.Endocr.7, 288 (1951).
16. EBLING, F.J.: "Changes in the sebaceous glands and epidermis during the oestrus cycle of the albino rat".
J.Endocr.10, 147 (1954).
17. HEROLD, W.C.:
"Sebaceous inhibition with 16-epioestriol-allyl-ether".
Arch.Derm.85, 628 (1962).
18. HODGSON-JONES, I.S.; MACKENNA, R.M.B.; WHEATLY, V.R.:
"The study of human sebaceous activity".
Acta Dermato-Venerol.32 (Suppl.28), 155 (1952).
19. KLIGMAN, A.M.:
"Pathophysiology of ringworm infection in animals with skin cycle".
J.Invest.Derm.27, 171 (1956).
20. KOSTANECKI, W.; BOSSE, K.; KREML-LAMPRECHT, L.:
"Der Einfluss des 16-Epioestriol auf den Hautcyclus der Maus".
Arch.Derm.217, 480 (1963).

21. KOSTANECKI, W.; BOSSE, K.; KREML-LAMPRECHT, L.:
 "Der Verlauf der Trichophyton metagrophytes-Infektion
 bei Mäusen unter der Einwirkung von 16-Epιοestriol".
 Arch.Derm.217, 489 (1963).
22. KOSTANECKI, W.:
 "Haarwurzelstatusbestimmungen bei menschlichen Säug-
 lingen".
 Arch.Derm. im Druck.
23. LOEFFLER, R.K.; THOMAS, V.:
 "Absorption of radioactive chloride in minute quantities
 through intact and mechanically damaged rat skin".
 Nucelar Sci.Abstr.5, 323 (1951).
24. MACKEE, G.M.; SULZBERGER, M.B.:
 "Histologic studies on percutaneous penetration, with spe-
 cial reference to the effect of vehicles".
 J.Invest.Derm.6, 43 (1945).
25. MONTAGNA, W.:
 "The Biology of Hair Growth".
 Acad.Press N. Y. (1958).
26. MORETTI, G.; GIACOMETTI, C.; BOIDO, V.; REBORA, A.:
 "Histamin, serotonin and mast cells in the skin of the rat
 during the hair cycle".
 J.Invest.Derm.4, 205 (1963).
27. NAKAO, T.; INABA, M.; KANEMOTO, S.; YANO, H.; SAITO, T.;
 TAKEYAMA, S.; TOZAWA, M.; TAKAMATSU, M.:
 "The studies on steroids in sweat".
 Jikei med.J.8, 135 (1961).
28. NEUMANN, E.; KOBILKOVA, J.; CECH, E.:
 "Der Anteil von Oestrogenen in der Ätiopathogenese des
 chronischen, rezidivierenden Ekzems bei der Frau".
 Hautarzt 7, 367 (1964).
29. ROESSLER, P.: "Versuche zur geruchlichen Anlockung weiblicher Stech-
 mücken (Aedes aegypti L., Culicidae)".
 Zeitschr.vergl.Physiol.44, 184 (1961).
30. ROESSLER, P.: "Zur Stechmückenanlockung durch den Menschen".
 Die Med.Welt 31, 1579 (1963).

31. ROTHMAN, St.:
 "Physiology and Biochemistry of the Skin".
 The University of Chicago Press, Chicago 1954.
32. SCHREUS, H.; OBERSTE-LEHN, H.:
 "Die Beziehungen des sogenannten weiblichen und männlichen Hormons zur Haut".
 Dermat. Wschr. 123, 245 (1951).
33. SJÖBLOM, L.: "Studies on the solubilization of oestrone and its percutaneous absorption in mice".
 Acta acad. aboensis, Mathematica et Physica 20, 14 (1956).
34. STRAUSS, J.S.; KLIGMAN, A.M.; POCHI, P.E.:
 "The effect of androgens and estrogens on human sebaceous glands".
 J. Invest. Derm. 39, 139 (1962).
35. SNELL, R.S.; BISCHITZ, P.G.:
 "The effect of large doses of estrogen and estrogen and progesterone on melanin pigmentation".
 J. Invest. Derm. 35, 73 (1960).
36. SZAKALL, A.: "Über die Eigenschaften, Herkunft und physiologischen Funktionen der die H-Ionenkonzentration bestimmenden Wirkstoffe in der verhornten Epidermis".
 Arch. klin. exp. Derm. 201, 331 (1955).
37. WHEELER, C.E.; CAWLEY, E.P.; CURTIS, A.C.:
 "The effects of topically applied hormones on growth, pigmentation and keratinization of the nipple and areola of immature, castrated male guinea-pigs".
 J. Invest. Derm. 20, 385 (1953).
38. ZUCKERMANN, S.:
 "The histogenesis of tissues sensitive to estrogens".
 Biol. Rev. 15, 231 (1940).

Es sei mir erlaubt, Herrn Prof. Dr. Dr. Alfred MARCHIONINI für die Arbeitsmöglichkeit in seinem Hause zu danken.

Herrn Dr. Dr. Klaus BOSSE und Herrn Priv.-Doz. Dr. Hans-Jürgen BANDMANN möchte ich besonders danken für die Anleitung und Hilfe bei der Durchführung der Arbeit.

LEBENS LAUF

Am 29. August 1939 wurde ich als vierter Sohn des Landwirts Erich Egeler und seiner Ehefrau Maria, geborene Bühler in Tübingen geboren. Nach fünf Jahren Volksschule in Nebringen, dem Wohnort meiner Eltern, besuchte ich fünf Klassen im Progymnasium Herrenberg. Im Frühjahr 1955 trat ich als Stipendiat in das Evangelisch-theologische Seminar Maulbronn ein, um nach zwei Jahren in das sogenannte obere Seminar in Blaubeuren überzuwechseln, wo ich im März 1959 die Reifeprüfung ablegte.

Das Studium der Medizin begann ich an der Universität Tübingen; dort bestand ich im Oktober 1961 das Physikum. Während der klinischen Semester studierte ich an der Universität München, wo ich am 24. Februar 1965 das Medizinische Staatsexamen beendete.

Im April 1964 heiratete ich die Studentin der Medizin Lotte Rügemer.

